

Mikromethode zur Bestimmung des proteingebundenen Jods (PBI)

von
Klaus Wolter
aus
Berlin



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus der Kinderklinik
der Universität Erlangen-Nürnberg
Direktor: Prof. Dr. med. A. Windorfer

Mikromethode zur Bestimmung des proteingebundenen Jods (PBI)

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen-Nürnberg

vorgelegt
von
Klaus Wolter
aus
Berlin

Gedruckt mit Erlaubnis der Medizinischen
Fakultät der Universität Erlangen-Nürnberg

Dekan: Professor Dr. med. E. Wetterer
Referent: Priv.-Doz. Dr. med. F.C. Sitzmann
Korreferent: Prof. Dr. med. A. Windorfer

Tag der mündlichen Prüfung: 29. 7. 1968

I n h a l t

- I. Allgemeines
- II. Geräte und Reinigung der Geräte
- III. Reagentien
- IV. Analyse
- V. Auswertung
- VI. Zusammenfassung
- VII. Genauigkeit des Verfahrens
- VIII. Normalbereich
- IX. Ursachen der Veränderungen des PBI
- X. Eigene Beobachtungen
- XI. Diskussion
- XII. Schlußfolgerung
- XIII. Literatur

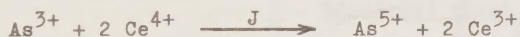


I. Allgemeines

Die Schilddrüsenhormone nehmen eine zentrale Stellung innerhalb des Stoffwechsels ein. Nur der kleinere, nichtgebundene Teil des Hormonjods greift an den Zellen der Körperperipherie an. Der größere Teil liegt in einer lockeren Bindung an die Inter-alpha-Globulinfraction und in geringen Mengen auch an die Albuminfraction vor, steht also in einer Speicherungsform dem Organismus als ständige Reserve zur Verfügung. Diesen Teil bezeichnen wir als proteingebundenes Jod (PBI). Die Bildung und Aufrechterhaltung eines beim Gesunden sehr stabilen PBI-Spiegels im Blut erfolgt durch proteolytische Spaltung der Thyreoglobuline, welche die Speicherungsform der Hormone in der Schilddrüse darstellen. Die Abgabe der Hormone in das Blut ist also in erster Linie Ausdruck der Schilddrüsenfunktion.

Die Bestimmung der PBI ist eine wertvolle Hilfe in der Diagnostik und Differentialdiagnostik der Schilddrüsenerkrankungen, doch stehen Schwierigkeiten in der Methodik einer allgemeinen Anwendung noch immer im Wege.

1934 wiesen Sandell und Chaihoff auf die Tatsache hin, daß Jod die Reduktion von Cerium^{IV}-Ionen zu Cerium^{III}-Ionen durch arsenige Säure katalysiert.



Seit Barker, Taurog und Chaihoff diese Erkenntnis meßtechnisch verwertet haben, wurde das Prinzip der Bestimmung des Blutjodids sowie der Bestimmung des proteingebundenen Jods nutzbar gemacht (5).

Mit Hilfe von Brucinsulfat wird eine Farbreaktion ausgelöst, die photometrisch gemessen werden kann. Dabei ist die Entfärbung des Farbkomplexes aus Brucin und dem verbleibenden Ce^{4+} -Salz umso stärker, je höher der Jodgehalt ist, d.h. die gemessene Extinktion ist dem PBI-Gehalt umgekehrt proportional.

Klein hat das Verfahren weiterentwickelt und erreicht, daß Jodid durch Veraschung und Destillation aus seiner Proteinbindung freigesetzt wird und dann nach der oben beschriebenen Methode bestimmt werden kann.

Es ist vielfach versucht worden, diese Methode zu vereinfachen. Amerikanische Autoren haben Verfahren entwickelt, die auf Destillationsgeräte verzichten. O'Neal und Simms haben ein Verfahren beschrieben, das dem unseren im Prinzip gleicht (5). Es wird dort aber über große Ungenauigkeiten berichtet, auf deren Ursache im Verlauf der vorliegenden Arbeit noch näher eingegangen wird. Leonards und Davoren (1962) sowie Leffler und McDougald (1964) beschritten den gleichen methodischen Weg, womit es möglich ist, eine beliebige Anzahl von Seren gleichzeitig zu bestimmen (8, 9).

Wir haben das Verfahren der Firma Haury eingeführt, wobei auf die komplizierten und kostspieligen Apparaturen, die mittlerweile zur Durchführung angegeben wurden (8, 9), verzichtet wird, so daß die Methode ohne großen Aufwand durchgeführt werden kann, zumal die Reagentien fertig in Testpackungen geliefert werden.

Die ersten Verfahrensbeschreibungen von Haury weisen eine Reihe technischer Unzulänglichkeiten auf, die aber durch eigene weitere Modifizierung und Verfeinerung der Technik beseitigt werden konnten.

II. Geräte und deren Reinigung

Im Verlaufe der Erprobung haben sich eine Reihe von Geräten als besonders brauchbar erwiesen, die hier kurz aufgezeigt werden sollen (Abb. 1 und 2).

1. Zentrifugengläser mit Rundboden
2. Siedestäbe ¹⁾
3. Automatische Mikropipetten (oder normale Glaspipetten) ²⁾
4. Ölbad (oder Blockerhitze) ³⁾
5. kurze Reagensgläser ⁴⁾
6. Photometer ⁵⁾
7. Makroküvetten, Kapillarpipette mit Saugball, Glasstab.

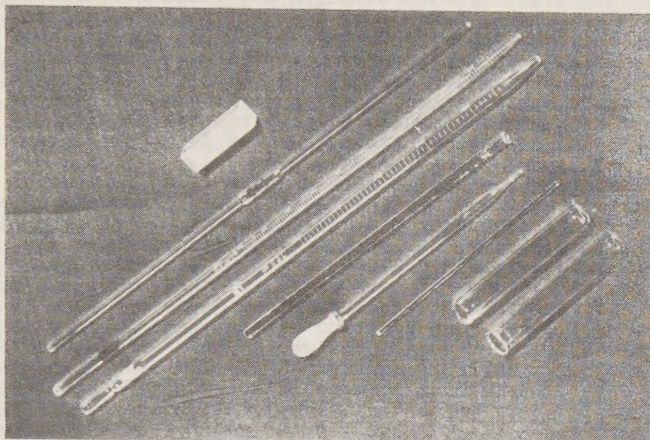
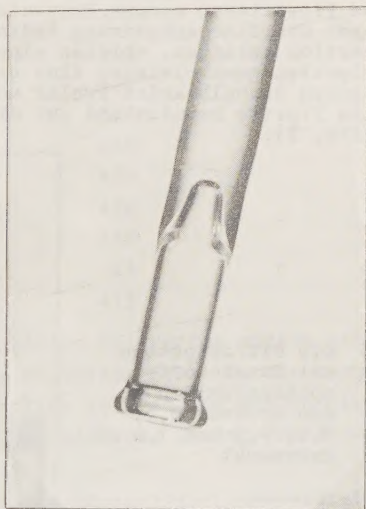


Abb. 1 Alle hier gezeigten Glasgeräte müssen besonders gereinigt werden

Abb. 2 zeigt den wichtigsten Teil des Siedestabes in vierfacher Vergrößerung

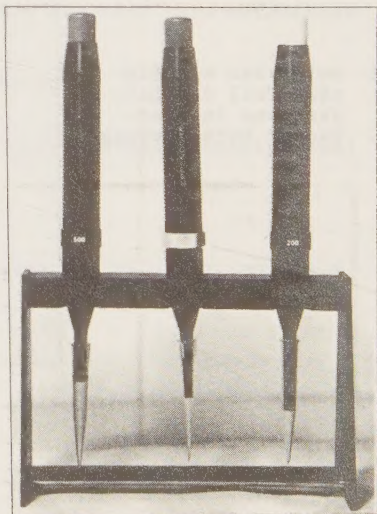


1) Die in den ersten Testanweisungen angegebenen Glaskugeln als Siedesteinchen haben sich als unbrauchbar erwiesen. Obwohl verschiedene Zahl und Größe ausprobiert wurden, kam es trotz vorsichtigen Erhitzens immer wieder zu Siedeverzug, wobei Säure und Eiweißflocken, mitunter samt der Glaskugeln, aus den Gläsern spritzten und dadurch nicht nur die Analyse unbrauchbar machten, sondern auch das Ölbad beschädigten. Auch Raschig-Ringe aus Glas brachten nicht den gewünschten Erfolg.

Mit der Einführung von Siedestäben konnten diese Schwierigkeiten wirksam beseitigt werden. Dabei entwickelten wir im Verlaufe der Untersuchungen mit verschiedenen Siedestäben die in Abb. 2 gezeigte Form, die sich aus mehreren Gründen als günstig erwiesen hat. Der Hohlraum von 15 x 4 mm läuft am oberen Ende konisch zu und ist nach unten zu etwas erweitert und mit einer Randverstärkung versehen. Diese Größe und Form ist notwendig, weil die in den Hohlraum aufsteigende Flüssigkeit des Aufschlusses wieder ausgespült werden muß. Das ist bei Siedestäben kleineren Kalibers äußerst schwierig. Auch lassen sich die Stäbe der beschriebenen Form leichter reinigen. Schließlich hat sich gezeigt, daß bei Stäben ohne Randverstärkung die Ränder beim Schlagen gegen die Glaswand (beim Ausspülen und Ausschütteln unvermeidlich) leicht splintern, wodurch die Stäbe unbrauchbar werden.

2) Bei der Einführung von Mikropipetten (Abb. 3) in dieses Verfahren sind wir davon ausgegangen, daß bei so geringen Mengen an Ausgangssubstanz und Reagentien einerseits und einer so empfindlichen Farbreaktion andererseits nur peinlich genaues Pipettieren genaue Ergebnisse liefert. Einzelne Tropfen, die durch Oberflächenspannung bedingt zuviel oder zuwenig in die Reaktion gelangen, spielen eine Rolle. Mikropipetten gewährleisten eine exakte Abmessung der Menge, wobei schon deshalb keine Fehler auftreten können, weil immer dieselbe Pipette benutzt und nur die Spitze ausgewechselt wird (Abb. 3).

Abb. 3 Die Mikropipetten mit Kunststoffspitzen werden in den Größen: 0,1; 0,2; 0,5 und 1,0 ml gebraucht



3) Das von uns verwendete Ölbad besitzt einen Thermostat, der bis 250°C reicht und einen Ständer, der maximal 24 Rundgläser faßt. Dieses Modell hat sich sehr bewährt. Der Thermostat schaltet schon vor der eingestellten Temperatur aus und steigert durch mehrmaliges Ein- und Ausschalten langsam auf den eingestellten Wert. Diese Eigenschaft wirkt sich bei Überschreiten des Siedepunktes besonders günstig aus. Das Ölbad soll so hoch mit Öl gefüllt sein, daß die Gläser ca. 3 - 4 cm tief darin eintauchen. Das Ölbad hat dem Blockerhitzer gegenüber den Vorteil, daß sich der Siedevorgang beobachten läßt, ohne daß die Gläser herausgenommen werden müssen. Der Siedevorgang muß wegen der starken Säuredampfentwicklung unter einem Abzug vorgenommen werden. Ein behelfsmäßiger Abzug als Zusatzgerät zum Ölbad im Becherglas läßt sich mit Hilfe eines größeren Trichters, der an eine Wasserstrahlpumpe angeschlossen wird, herstellen (2).

4) Nach erfolgreichem Aufschluß wird der gelöste Rückstand zur weiteren Reaktion in Reagensgläser umgefüllt. Hierzu eignen sich am besten kurze Rgls. von ca. 10 cm Höhe, da man in diese mit den kurzen Mikropipetten gut einpipettieren kann. Bei Verwendung der üblichen Größen wird die Glaswand von oben bis unten benetzt, was bei den geringen Mengen den Mischungsvorgang sehr erschwert.

5) Zur Messung der Farbtiefe ist jedes Photometer geeignet. Es wird mit Licht der Wellenlänge 400 - 430 nm gemessen. Daraus ergeben sich für die verschiedenen Photometertypen die folgenden Filtergrößen:

Zeiss Elko II + III	S 42 E
Eppendorf	405
Beckmann	420
Vitatron	432
Riele	420
Bergmann Elektrophot I	430
Leifo E	420
Coleman	430
Engel - Kolorimeter	43
Spektralphotometer	415

Sämtliche zur Bestimmung verwendeten Glasgeräte müssen jodfrei sein. Sie werden üblicherweise zu diesem Zweck in Chromschwefelsäure gewaschen, was umständlich ist, so daß die Reinigung, besonders bei großem Verbrauch an Geräten, in der Praxis oft auf Schwierigkeiten stößt.

Wir haben deshalb Versuche mit dem Spezialreinigungsmittel RBS der Fa. Roth, Karlsruhe, angestellt, das heute in vielen Labors

Verwendung findet und die Reinigung von Hand sehr vereinfacht. Vergleiche mit Geräten, die in Chromschwefelsäure gewaschen wurden, ergaben keinerlei Unterschied im Bestimmungsergebnis. Das Reinigungsmittel greift die Hände nicht an.

III. Reagentien

Perchlorsäure 6,6%ig	
Chlorsäure-Chromat-Lösung	100 ml
Arsenreagens	75 ml
Cerammonsulfat 2 Kapseln à	50 mg
Schwefelsäure verd.	50 ml
Brucinreagens	25 ml
Jodstandard 10%	6 ml

Alle Reagentien, mit Ausnahme der Perchlorsäure, sind in den angegebenen Mengen in einer Testpackung enthalten.

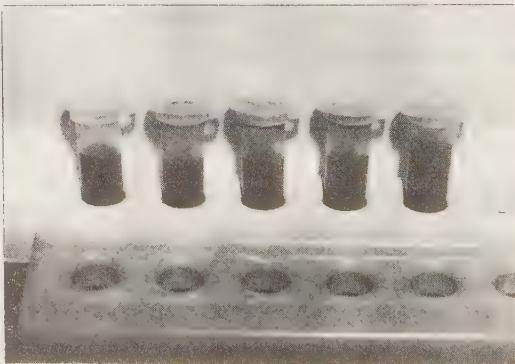
Zur Herstellung der Cerammonsulfat-Lösung wird der Inhalt einer Kapsel in einen 25 ml-Meßkolben geschüttet, bis zur Eichmarke mit verdünnter Schwefelsäure aufgefüllt und mehrmals gut durchgeschüttelt. Das Cerammonsulfat ist sehr gut löslich. Bei größerem Verbrauch empfiehlt es sich, gleich beide Kapseln in der gelieferten Flasche mit verdünnter Schwefelsäure zu lösen.

Die in den Packungen enthaltenen Reagentien sind unbegrenzt haltbar. Die angesetzte Cerammonsulfat-Lösung ist ca. 1/2 Jahr haltbar (2). Mit einer Packung können je nach Zahl der gleichzeitig durchgeführten Bestimmungen 16 - 40 Analysen ausgeführt werden.

Zu einer Einzelbestimmung werden nur 0,3 ml Serum benötigt. Soll Blut nur zur Jodbestimmung abgenommen werden, so eignen sich die in Abb. 4 gezeigten Mikro-Plastikröhrchen mit einem Volumen von 1 1/2 ccm. Mit der Serummenge, die ein Röhrchen voll Blut ergibt (ca. 0,7 ml), lassen sich eine ganze Reihe anderer Mikrobestimmungen ausführen.

Abb. 4

Die hier gezeigten Plastikröhrchen können nur dort angewendet werden, wo mit einer Mikroeinrichtung gearbeitet wird



Leicht hämolytische Seren kann man ohne Bedenken verwenden. Auch erhöhter Bilirubingehalt wirkt nicht störend auf die Reaktion. Auf eine Reihe von Umständen, unter denen ein Serum abnorme Werte liefert, ohne daß eine Dysfunktion der Schilddrüse primär vorliegt, wird später eingegangen.

Das Serum ist im Kühlschrank längere Zeit (mindestens eine Woche) haltbar; man kann deshalb zur Rationalisierung Seren mehrere Tage sammeln und dann gemeinsam bestimmen.

Bei Verwendung von Testseren ist darauf zu achten, daß sie gut in H_2O - dest. gelöst und möglichst vor Gebrauch über Nacht im Kühlschrank aufbewahrt werden.

Laut Gebrauchsanweisung für das Versatol der Fa. Gödecke soll das Serum schon nach einer halben Stunde Lösungszeit gebrauchsfertig sein. Es zeigte sich aber im Rahmen der Untersuchungen zur Bestimmung des Standardfehlers, daß dieser nach vorschriftsmäßiger Behandlung des Trockenserums (Versatol A) doppelt so hoch war wie der anschließend mit dem "Versatol A Alternate" errechnete, nachdem letzteres in der oben vorgeschlagenen Weise behandelt worden war.

Das Testserum ist bei so kurzer Lösungszeit offensichtlich noch nicht genügend stabil und zeigt, trotz kräftigen Schüttelns, rasch eine gewisse Sedimentation der Eiweißkörper mit höherem Molekulargewicht, d.h. der Globuline, in deren Fraktion sich der Hauptanteil des PBI befindet. Durch eigene Beobachtung konnte dies nachgewiesen werden.

IV. Analyse

Die Bestimmung des PBI setzt sich aus drei Hauptarbeitsgängen zusammen:

- A. Gewinnung des Proteins als jodidfreies Präcipitat.
- B. Saurer Aufschluß des Proteins in der Hitze.
- C. Farbreaktion mit Hilfe des Jodats.

A. Je nach Zahl der durchzuführenden Bestimmungen werden Zentrifugengläser mit 5 ml 6,6%iger Perchlorsäure gefüllt.

In die Säure läßt man vorsichtig 0,3 ml Serum aus Mikropipetten eintropfen (Abb. 5). Die gebildete Eiweißflocke muß mindestens 5 Minuten in der Säure ruhen, erst dann ist das Eiweiß völlig denaturiert und das freie Jodit herausgelöst.

Anschließend löst man die vielfach mit der Glaswand verklebte Eiweißflocke mit einem Glasstab ringsum sorgfältig ab und zentrifugiert 10 Minuten lang bei 4000 U/Min.

Die überstehende Säure wird mit einer Kapillarpipette vorsichtig unter Schräghalten des Glases abgesaugt. In ein leeres Zentrifugenglas werden 0,3 ml Standard-Lösung gegeben, in ein zweites 0,3 ml H_2O - bidest. als Grundwert.

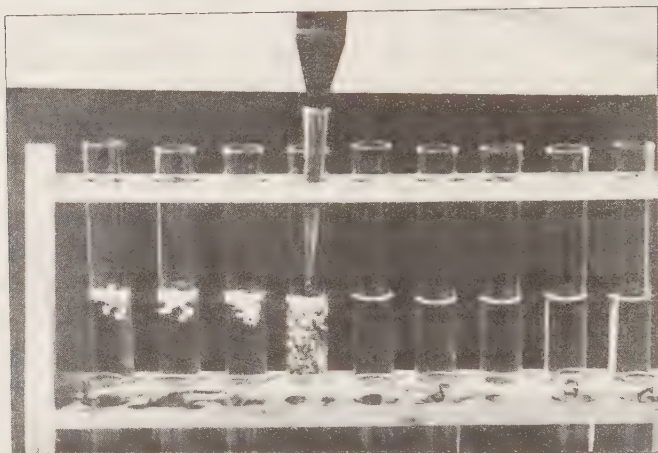


Abb. 5 Beim Eintropfenlassen führt ein etwas zu starker Druck auf den Stempel der Pipette zum Einspritzen und zu einer feinflockigen Fällung. Das hat in dem Umfang, wie es im 4. Glas gezeigt ist, keine Nachteile.

Die Gewinnung des Präzipitats stellt die erste größere Fehlerquelle des Verfahrens dar, auf die hingewiesen werden soll. Beim Eintropfenlassen des Serums werden nur die ersten Tropfen völlig gefällt. Die Flocken schwimmen auf und verhindern das Eintauchen des folgenden Serums, so daß sich ein kleiner Serum-See auf der Flocke bildet, der erst im Verlaufe mehrerer Minuten von der Säure durchdrungen und denaturiert wird. Diese Beobachtung ließ zunächst Zweifel aufkommen, ob bei einer so rasch zusammengeballten Flocke das anorganische Jod völlig herausgelöst würde. Wir haben daraufhin verschiedene Möglichkeiten untersucht, das Protein feinflockiger zu fällen. Es zeigte sich aber, obwohl sich ein solcher Effekt durch Vorver-

dünnung mit H_2O - bidest. und anschließendes Eintropfenlassen der Perchlorsäure sehr gut erzielen ließ, kein Unterschied im Ergebnis. Dagegen führten alle Versuche zu einer starken Verklebung des Präzipitats mit der Glaswand. Teilweise bildeten sich auch kolloidale Lösungen, die sich nicht mehr abzentrifugieren ließen.

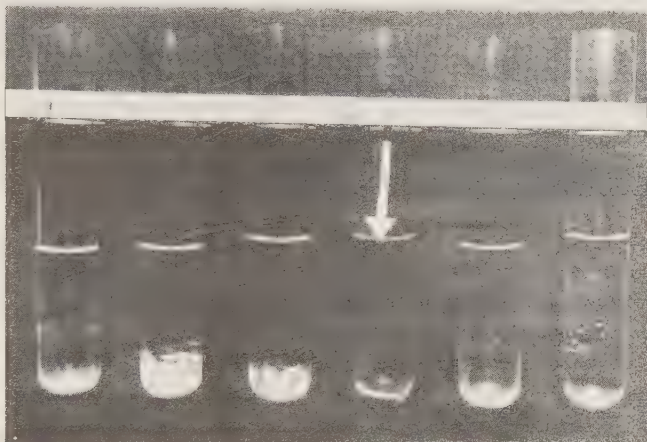


Abb. 6 Verschiedene Fällungsmethoden nach dem Zentrifugieren. Das mit dem Pfeil gekennzeichnete Glas läßt den besten Effekt erkennen. Dieser entspricht der im Verfahren beschriebenen Fällung.

Das Ablösen mit dem Glasstab muß sehr sorgfältig ausgeführt werden, da bei der geringen Ausgangsmenge jedes Eiweißteilchen, das nicht an der Reaktion teilnimmt, das Ergebnis beeinträchtigt, und fest an der Glaswand haftende Teilchen am Ende des Erhitzens bei $180^{\circ}C$ verkohlen und dadurch zu erheblichen Erhöhungen der Extinktion führen.

Beim Zentrifugieren bildet sich an der Oberfläche ein Film von feinen Eiweißteilchen, die sich auch bei maximaler Umdrehungszahl nicht abzentrifugieren lassen. Damit diese für die Reaktion nicht verlorengehen, saugen wir den Überstand mit Hilfe einer Kapillarpipette mit Gummiball vorsichtig ab, wobei das

Glas schräggehalten wird, so daß sich der Eiweißfilm mit sinkendem Flüssigkeitsspiegel an die Glaswand anlegt und später mit der Chlorsäure-Chromat-Lösung abgespült werden kann.

Die Gläser brauchen nach dem Absaugen nicht getrocknet zu werden, da die Menge an anorganischem Jod, die mit der Feuchtigkeit zurückbleibt, so gering ist, daß sie vernachlässigt werden kann.

Bei mehreren Bestimmungen, die auf einmal gemacht werden, empfiehlt es sich, Standard und Grundwert doppelt anzusetzen, weil dadurch die manuellen Vorgänge während des Verfahrens kontrolliert werden können.

B. Zum Aufschluß des Proteins werden in sämtliche Gläser

2 ml Chlorsäure-Chromat-Lösung gegeben, wobei man die Pipette rotieren läßt, damit die angelegten Eiweißteilchen und Tropfen der Standardlösung abgespült werden.

In jedes Glas wird ein Siedestab gestellt (Abb. 7). Da das Präzipitat teilweise am Boden haftet, schiebt man es vor Einbringen der Siedestäbe mit einem Glasstäbchen zur Seite, so daß die Flocke frei in der Säure schwimmt.

Die Gläser werden nun in den Ständer des Ölbadestellungs gestellt.

Die Temperaturen werden stufenweise geschaltet, zuerst auf 100°C. Diese Temperatur wird nach 35 - 40 Minuten erreicht.

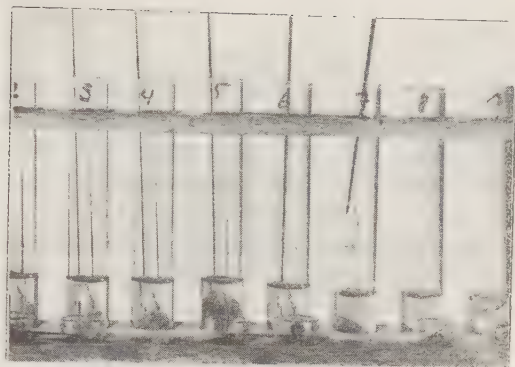
Dann schaltet man in Stufen zu 5°C weiter, bis nach 15 Minuten 110°C erreicht sind. Damit ist der kritische Siedebereich überwunden. In Stufen zu 10°C wird nach ca. 30 Minuten die Temperatur von 140°C erreicht, bei der der Siedevorgang beendet ist. In weiteren 25 Minuten wird in 2 Stufen bis auf 180°C gesteigert. Bei dieser Temperatur verweilen die Proben noch genau 20 Minuten im Ölbad.

Die Gesamtdauer des Erhitzens beträgt ca. 125 - 140 Minuten.

Anschließend nimmt man die Gläser heraus, wischt sie außen ab und läßt die Proben bis auf Zimmertemperatur im Reagensglasständer abkühlen.

Abb. 7

Die Siedestäbe werden
neben das schwimmende
Präzipitat gestellt



Der Aufschluß des Proteins in der Hitze ist die zweite und größte Fehlerquelle des Verfahrens. Die Temperatursteigerungen müssen in bestimmten Bereichen (wie beschrieben) genügend langsam vorgenommen werden; der gesamte Erhitzungsvorgang muß genügend lange dauern.

Die Schwierigkeit liegt darin, daß eine wässrige Lösung weit über ihren normalen Siedepunkt hinaus erhitzt werden muß. Die Wirkung des langsamen Erhitzens liegt nun darin, daß die zunehmende Konzentration und damit Siedepunkterhöhung bei Einengung des Flüssigkeitsvolumens ausgenützt, also ein Mißverhältnis zwischen Temperatur und augenblicklichem Siedepunkt vermieden wird.

Das von uns benutzte Ölbad schaltet bereits bei 80°C zum ersten Mal aus, um dann stufenweise weiterzuheizen, bis die eingestellte Temperatur erreicht ist. Bei 95°C beginnen die Serenproben zu siedern. Ein Überkochen wird zwar durch die Siedestäbe vermieden, doch wirken die Eiweißteilchen mit ihrer großen Oberfläche als zusätzliche Siedekeime, und es kommt bei zu rascher Temperatursteigerung zum Aufschäumen, wobei Eiweißteilchen mit hochgerissen werden und dann an der Glaswand haften bleiben. Deshalb muß, wenn kein automatischer Thermostat zur Verfügung steht, besonders der Temperaturbereich von $95 - 110^{\circ}\text{C}$ überwacht und die Temperatursteigerung auf die angegebene Zeit ausgedehnt werden. Der Versuch, etwaigen Siedeverzug durch Schütteln oder

Umrühren mit dem Stab verhindern zu wollen, führt zu Aufschäumen.

Ein stetes, ruhiges Sieden ist am ehesten gewährleistet, wenn man die Gläser nicht berührt und einen Thermostat benutzt. Von 110°C an treten keine Komplikationen mehr auf. Bei ca. 135°C macht sich oft noch einmal ein Aufwallen bemerkbar, doch liegen zu diesem Zeitpunkt keine makroskopischen Teilchen mehr vor. Bei 140°C beruhigen sich die Lösungen völlig. Der Siedepunkt von Standard und Grundwert liegt bei 110°C . Beide Lösungen sieden etwas länger als die Serumproben. Zwischenfälle im Bereich des Siedepunktes treten hierbei nicht auf.

Die hier angegebenen Zeiten unterscheiden sich beträchtlich von denen, die in den ersten Gebrauchsanweisungen der Testpackungen zu finden sind. Lange Erprobungen haben aber gezeigt, daß die Einhaltung der Zeiten den kompletten Aufschluß des Proteins am ehesten gewährleisten.

Es kommt vor allem darauf an, daß 20 Minuten bei 180°C unbedingt eingehalten werden!

Geringfügige zeitliche Schwankungen während der Temperatursteigerungen sind häufig nicht zu vermeiden und spielen auch keine Rolle.

In allen bisherigen Veröffentlichungen (2, 5, 9) wird darauf hingewiesen, daß der Aufschluß nicht grün gefärbt sein darf und daß in diesem Falle bis zur Rotfärbung des Aufschlusses weitererhitzt werden muß.

Henning (5) erwähnt bei der Beschreibung des Verfahrens nach O'Neal und Simms (11), daß die Ursache der Grünfärbung, die bei $150 - 180^{\circ}\text{C}$ vorübergehend auftritt, in einem Übergang von VI-wertigem in III-wertiges Chrom liegt und macht diesen Vorgang für beträchtliche Jodverluste verantwortlich, die am Ende zu falschen Ergebnissen führen.

Diese Beobachtung können wir bestätigen, da wir lange Zeit die gleichen Schwierigkeiten hatten. Bei 40 - 50% der Serumproben trat Grünfärbung auf, und es zeigten sich bei diesen geringere Jodwerte auch dann, wenn gemäß den früheren Vorschriften des Verfahrens (2,9) solange weitererhitzt wurde, bis die Rotfärbung eintrat. Da die Spitzentemperaturen zunächst nur mit $160 - 180^{\circ}\text{C}$

angegeben waren, dauerte dieser Vorgang in einzelnen Fällen 1/2 Stunde und länger.

Tropfenweise Zugabe von Chlorsäure-Chromat-Lösung während des Siedevorganges, wie sie bei Henning (5) vorgeschlagen wurde, beseitigte zwar für wenige Augenblicke die Grünfärbung, brachte aber keine Besserung der Ergebnisse. Auch bei Gabe von Chlorsäure-Chromat-Lösung im Überschuß traten Grünfärbung und verminderte Jodwerte mit der gleichen Frequenz auf.

Allerdings sind aus diesen Beobachtungen falsche Schlußfolgerungen gezogen worden, denn ein echter Jodverlust durch Übergang von VI-wertigem in III-wertiges Chrom findet nicht statt; vielmehr kommt der scheinbare Jodverlust dadurch zustande, daß der Aufschluß nicht bei allen Proben zu gleicher Zeit beendet ist, und daß gerade die Proben, bei denen eine vorübergehende Grünfärbung registriert wurde, bei der Aufschließung des Proteins nachhinken, so daß zum Zeitpunkt des Farbumschlages nach Rot noch nicht das gesamte PBI als Jodat vorliegt.

Erhitzt man aber nicht nur so lange, bis der Farbumschlag erfolgt, sondern läßt man alle Proben nach Erreichen der Höchsttemperatur weitere 20 Minuten im Ölbad, so treten diese Fehler nicht mehr auf. Damit wird die Frage, ob Grünfärbung auftritt oder nicht, belanglos und ein Beobachten des Aufschlusses überflüssig.

C. Die Farbreaktion erfolgt in mehreren Arbeitsgängen.

In jedes Glas werden mit einer Vollpipette 1,5 ml Arsenreagens gegeben und der Aufschluß unter Schütteln darin gelöst. Dann werden die Siedestäbe ausgeschüttelt und aus den Gläsern genommen.

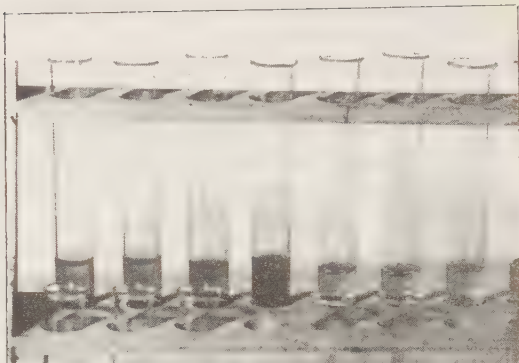
Von der so gewonnenen Lösung wird nach Ablauf von 10 Minuten aus jedem Glas 1 ml in bereitstehende Reagentgläser gefüllt. Dazu benutzen wir eine 1 ml-Mikropipette.

In jedes Glas wird 1 ml Cerammonsulfat pipettiert, umgeschüttelt und wieder 10 Minuten gewartet.

Dann gibt man zu jeder Probe 0,5 ml Brucinreagens und schüttelt gut um.

Abb. 8

In 4 Gläser ist Brucinreagens eingefüllt. Die ersten 3 Lösungen sind bereits abgeblaßt, während die 4. noch die typische dunkle Färbung zeigt.



Die vorher blaßgelbe Lösung nimmt beim Einfüllen von Brucinreagens und Umschütteln zunächst eine mehr oder weniger kräftig tiefrote Färbung an, die rasch abblaßt und in eine verschieden tingierte gelbbraune Farbe übergeht (Abb. 8). Nach Ablauf von 20 Minuten ist die Reaktion beendet und die einzelnen Lösungen werden im Photometer gegen Wasser als Leerwert gemessen.

Die Siedestäbe bleiben während des Lösungsvorganges in den Gläsern stehen; dadurch steht nur noch ein schmaler Raum im Zentrifugenglas zur Verfügung, in den der Stutzen der 1,5 ml-Vollpipette paßt. Die Spitze wird nach jeder Entnahme von Arsenreagens aus der Flasche mit einem Tuch abgewischt und beim Auslaufenlassen ausgeblasen, so daß das Arsenreagens im Strahl einläuft und nicht die Pipettenspitze mehrere Zentimeter hoch benetzt. Am besten füllt man zuerst das Arsenreagens in alle Gläser ein, stellt die Kurzzeituhr auf 10 Minuten ein und löst dann unter stampfenden Bewegungen mit dem Siedestab und anschließendem leichten Schütteln den Aufschluß, der teils in Form von Kristallnadeln, teils als amorpher Film an der Glaswand vorliegt.

Es entsteht eine wasserhelle, leicht blaugrün tingierte Lösung, in der sich feine Kristallnadeln bilden, die rasch zu Boden sinken. Kurz vor Ablauf der eingestellten Zeit werden die Siedestäbe der Reihe nach aus den Gläsern genommen, nachdem die Hohlräume durch kräftiges Ausschütteln entleert wurden.

Für alle folgenden Arbeitsgänge verwenden wir aus Gründen der größeren Genauigkeit und der leichteren und schnelleren Handhabung Mikropipetten. Es empfiehlt sich, vor jedem Arbeitsgang die Uhr einzustellen und das Pipettieren immer mit der gleichen Geschwindigkeit durchzuführen. Nur dadurch ist die Einhaltung der vorgeschriebenen Reaktionszeiten, insbesondere die der Reaktion der As^{3+} -Ionen mit den Ce^{4+} -Ionen für jede Probe gewährleistet. Dies kommt vor allem bei längeren Serien zum Tragen, bei

denen das Einfüllen der Reagentien beinahe die Reaktionszeit ausfüllt.

Auf den kristallinen Niederschlag braucht man beim Umfüllen keine Rücksicht zu nehmen, er hat auf die Reaktion keinen Einfluß.

Brucinreagens hat eine höhere Oberflächenspannung als die übrigen Lösungen und neigt deshalb mehr zur Tropfenbildung in der Pipettenspitze. Es muß hierbei also auf besonders langsames Auslaufenlassen geachtet werden.

Der Standard zeigt eine helle, gelbbraunliche Färbung, der Grundwert ist dunkelbraun gefärbt. Dazwischen liegt in der Regel die Mehrzahl der Proben. Grundsätzlich stellt der Grundwert den dunkelsten Farbton dar; auf Ausnahmen wird an anderer Stelle noch eingegangen.

V. Auswertung

Der PBI-Gehalt wird nach der folgenden linearen Beziehung berechnet:

$$\frac{\text{Ext. Grundwert} - \text{Ext. Serumprobe}}{\text{Ext. Grundwert} - \text{Ext. Standard}} \times 10 = \gamma \% \text{ PBI (2)}$$

Grundwert und Standard können variieren. Selbst bei Reagentien aus einer Packung unterscheiden sich die Werte oft von einem Tag zum anderen. Bei Nichteinhaltung der vorgeschriebenen Reaktionszeit ist diese Erscheinung erklärlich, da die Reaktion zwischen As und Ce zeitabhängig ist. Aber auch bei Beachtung aller Vorschriften kommen Veränderungen vor, deren Ursache nicht sicher geklärt werden konnte. Einmal können Reagentien, die nicht aus einer Charge stammen, unterschiedlich sein, zum anderen liegen im Erhitzungsvorgang mögliche Ursachen, da der zeitliche Durchlauf der einzelnen Temperaturbereiche in der Praxis nicht immer vollkommen gleichbleibt.

Im Gegensatz zu extrem geringen Extinktionen, aus denen Werte resultieren, die über die Kapazitätsgrenze des Proteins für Jod hinausgehen, haben wir auch in einigen Fällen Extinktionen beobachtet, die höher lagen als die des Grundwertes.

Wir haben, um Zweifel auszuschließen, die jeweilige Probe mehrmals durchgeführt und sind immer wieder auf die gleiche Erscheinung gestoßen. Bei fast allen Fällen handelte es sich um Serum von Kindern, bei denen entweder eine Hypothyreose klinisch sicher nachgewiesen war, oder eine Verminderung des PBI aus anderen Gründen vorlag.

Wir vermuten, daß bei Seren, die nur sehr geringe oder gar keine Spuren von PBI enthalten, nichtflüchtige Veraschungsprodukte die Reaktion im Sinne einer Farbvertiefung beeinflussen.

Dies wäre auch ein möglicher Grund dafür, daß der Normalbereich dieses Verfahrens gegenüber anderen gering nach unten erweitert ist.

VIII. Zusammenfassung

	Analyse	Standard	Grundwert
Perchlorsäure 6,6%	5,0	-	-
Serum	0,3	-	-
Nach 5 Minuten zentrifugieren, klaren Überstand verwerfen			
Rückstand	+	-	-
Jodstandard	-	0,3	-
H ₂ O - dest.	-	-	0,3
Chlorsäure-Chromat- Lösung	2,0	2,0	2,0
Siedestäbe in jedes Glas. Proben ins Ölbad stellen. Erhitzen: 1. Thermostat auf 100°C einstellen: 40 Min. 2. In 2 Stufen auf 110°C erhitzen: 10 Min. 3. In 3 Stufen auf 140°C erhitzen: 30 Min. 4. In 2 Stufen auf 180°C erhitzen: 25 Min. 5. Bei 180°C Proben 20 Min. im Ölbad stehen lassen. Gesamtzeitbedarf des Erhitzens ca. 125 Min. Gläser herausnehmen und auf Zimmertempera- tur abkühlen lassen, Zeitbedarf: 15 Min. Auf den Rückstand (ca. 0,3 ml) geben:			
Arsenreagens	1,5	1,5	1,5
Schütteln. 10 Minuten stehen lassen, Siedestäbe herausnehmen. Aus jeder Probe wird 1 ml weiter verwendet.			
Gemisch	1,0	1,0	1,0
Cerammonsulfatlösung	1,0	1,0	1,0
Umschütteln, 10 Minuten stehen lassen			
Brucinsulfatlösung	0,5	0,5	0,5
Umschütteln. Die Ablesung erfolgt nach 20 Minuten bei 400 - 430 nm gegen Wasser als Leerwert			
Berechnung:	Ext. Grundwert - Ext. Serumprobe		
	Ext. Grundwert - Ext. Standard		
	x 10 %		

Es ergibt sich erfahrungsgemäß ein Gesamtzeitbedarf von mindestens $3 \frac{1}{4}$ Stunden für eine Einzelbestimmung und $4 \frac{1}{2}$ Stunden für eine Reihe von 16 Seren.

VI. Genauigkeit des Verfahrens

Leffler und McDougald (8) hatten 3000 Seren untersucht und berichten über eine Standardabweichung von 0,4 $\gamma\%$.

Von I.M. Petrie (8) mit 10 000 Untersuchungen wird eine Standardabweichung von 0,3 $\gamma\%$ angegeben.

Nachdem das Verfahren in der hier angegebenen Form ausgearbeitet war, führten wir insgesamt 4 Meßreihen zur Bestimmung des Standardfehlers durch.

1. Der erste Test mit 15 Proben des Testserums "Versatol A" führte zu einem Standardfehler von nur 0,5 $\gamma\%$. Eine zweite Meßreihe mit 15 Proben "Versatol A Alternate" führte zu noch besseren Ergebnissen (s.u.).

Zur Erhärtung des Ergebnisses wurden noch zwei Reihenbestimmungen vorgenommen unter Bedingungen, wie sie in der Praxis vorkommen: Serum wurde einem gesunden Erwachsenen an zwei verschiedenen Tagen abgenommen. Davon wurde das eine frisch verwendet, das andere nach 5 Tagen Lagerung im Kühlschrank.

2. Frisches Serum 10 Proben.

3. 5 Tage altes Serum 10 Proben.

1.	2.	3.	
9,66 $\gamma\%$	9,58 $\gamma\%$	3,44 $\gamma\%$	3,36 $\gamma\%$
9,26 "	9,55 "	3,74 "	3,80 "
9,82 "	9,85 "	3,81 "	3,58 "
10,30 "	9,85 "	4,26 "	3,70 "
9,70 "	9,77 "	3,99 "	4,42 "
9,70 "		3,99 "	4,00 "
9,87 "		3,95 "	3,28 "
9,53 "		4,39 "	3,38 "
9,48 "		4,23 "	3,54 "
9,85 "		3,99 "	4,42 "
1. Mittelwert $m = 9,71 \gamma\%$			
$\sigma = \pm 0,25 \gamma\%$			
Abweichung vom Sollwert:			
- 3,0 $\gamma\%$			
(Die Abweichung beim			
Versatol A betrug + 0,7 $\gamma\%$			
2. Mittelwert $m = 3,98 \gamma\%$			
$\sigma = \pm 0,28 \gamma\%$			
3. Mittelwert $m = 3,55 \gamma\%$			
$\sigma = \pm 0,23 \gamma\%$			

Aus den drei errechneten Standardfehlern ergibt sich ein mittlerer Standardfehler von $\sigma \pm 0,25 \gamma\%$.

Ein solcher Fehler erscheint bei der Fülle der Fehlermöglichkeiten kleiner als erwartet.

Unter den Bedingungen einer normalen Verteilungskurve erfaßt der Bereich 1σ nicht einmal 90% der Fälle.

Erst mit $1,6\sigma$ werden 90%

mit 2σ 95%

mit 3σ 99% der Fälle erfaßt.

Dies bedeutet für unser Ergebnis: $1,6\sigma = 0,4 \%$

$2\sigma = 0,5 \%$

$3\sigma = 0,75 \%$.

Für die Praxis kann der Fehlerbereich von $2\sigma = 0,5 \%$ treten werden, zumal eine Reihe von klinischen Umständen, über die noch ausführlich berichtet wird, Fehler erzeugen, die weit über den methodisch verursachten liegen.

VIII. Normalbereich

Die bei der Bestimmung des Standardfehlers erhaltenen Werte weichen zum Teil sehr von den angegebenen Sollwerten ab. Doch spielen die Herstellungsart des Testserums und vor allem die unterschiedlichen Methoden bei der Bestimmung der Soll-dosis eine so bedeutende Rolle, daß Abweichungen, wie wir sie beim "Versatol A" und "Versatol A Alternate" (bei Untersuchungen mit den Dade-Testseren der Jodotrolreihe erhielten wir neuerdings Ergebnisse, die den angegebenen Werten näherkamen) erhielten, nicht für oder gegen die Richtigkeit einer neuen Methode sprechen. Sie machen aber die Untersuchung eines für die Methode gültigen Normalbereiches notwendig, besonders weil die Angaben in der Literatur über den Normalbereich des PBI sehr divergieren.

So finden wir bei:

Leffler und McDougald 1964, Dennig 1966, Feer 1966:	4 - 8 %
Henning 1959 (nach O'Neal)	2,5 - 8 %
Hallmann 1966	8 - 14 %
Heggin 1966	3,5 - 7 %
Schoen und Südhof 1966	3,5 - 8 %
Heinze und Ebert (4) 1967 (nach Barker)	3,2 - 7,5 %

Um zu einigermaßen verlässlichen Werten für den Normalbereich des hier beschriebenen Verfahrens zu gelangen, wählten wir an unserer Klinik eine Reihe von Kindern aus, die entweder organisch gesund

waren, oder deren Erkrankung sich in Bezug auf das PBI indifferent verhielt.

Das Kollektiv enthielt 145 Kinder aller Altersstufen bis zum 15. Lebensjahr. Davon waren 54% Knaben und 46% Mädchen.

In den verschiedenen Altersstufen treten keine unterschiedlichen Häufigkeitsgipfel in bestimmten Bereichen auf. Darin stimmen unsere Ergebnisse mit denen anderer Autoren überein (1). Ein Geschlechtsunterschied besteht nicht.

Trotz eines gewissen Unsicherheitsfaktors, der sich aus dem Kollektiv einer Klinik dadurch ergibt, daß unter den als indifferent angesehenen Erkrankungen doch in einzelnen Fällen Kinder miterfaßt werden können, bei denen geringfügige Verschiebungen des PBI aus noch nicht genügend erforschten Ursachen bestehen, ergibt sich eine nahezu der Gaußschen Verteilungskurve entsprechende Streuung der Werte. Die Häufigkeitssäulen umfassen jeweils einen Bereich von 1 $\gamma\%$. Die Einteilung in kleinere Bereiche vorzunehmen, wäre bei der Zahl der Fälle und dem zu berücksichtigenden Fehler nicht sinnvoll.

Der Mittelwert wurde mit $m = 5,5 \gamma\%$ errechnet.

Die mittlere Abweichung der Einzelwerte beträgt $\sigma = \pm 1,46 \gamma\%$

Die mittlere Abweichung des Mittelwertes beträgt $\bar{\sigma} = \pm 0,14 \gamma\%$.

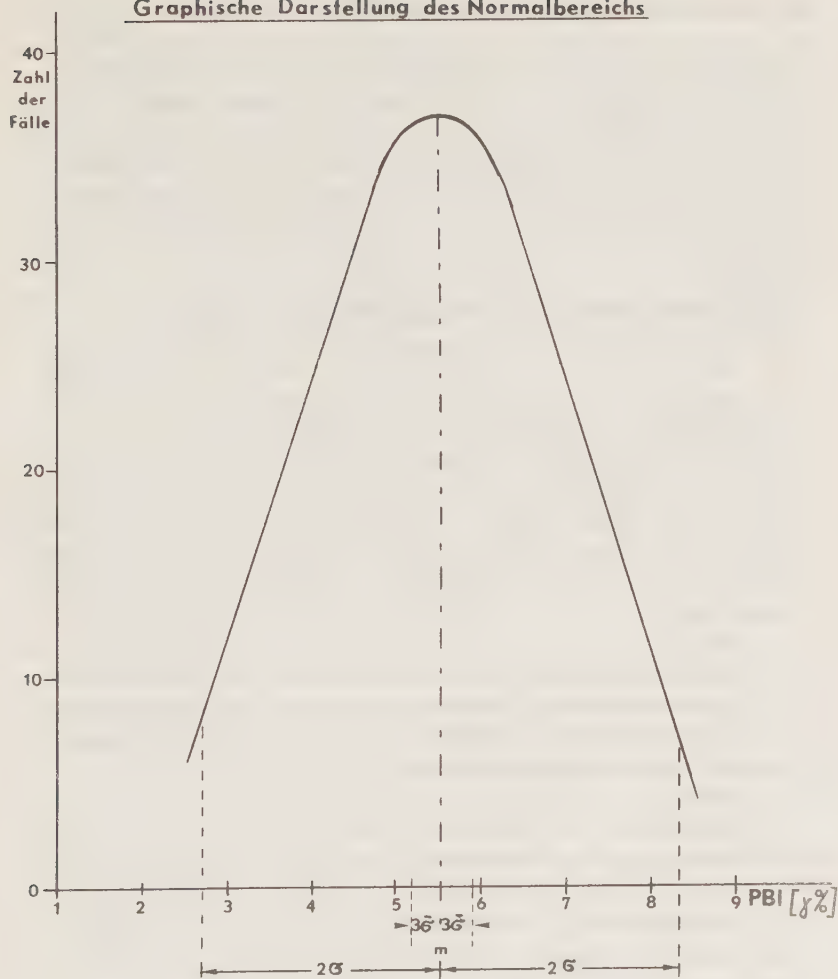
Daß die Verteilungskurve einen so idealen Verlauf zeigt, spricht sowohl für die Methode als auch für die Brauchbarkeit des Kollektivs. Da die Kurve kein Auslaufen zeigt, sondern bei 2,5 $\gamma\%$ und 8,5 $\gamma\%$ abbricht, dürfen diese Grenzen als richtig angesehen werden. Bei der großen Zahl der Fälle ist es kein Zufall, wenn der 2σ -Bereich beinahe mit den experimentell gefundenen Kurvenenden übereinstimmt.

Da der 2σ -Bereich wegen seiner starken Abhängigkeit von der Gesamtverteilung noch viel weniger zufälligen Schwankungen unterworfen ist als die Enden einer Verteilungskurve und außerdem bei diesem Kurvenverlauf 97,5% der Fälle erfaßt, wurde er für dieses Verfahren als Normalbereich gewählt, der damit von

$$\underline{2,7 \gamma\% - 8,3 \gamma\%}$$

reicht. Diese Werte weichen nur um + 0,2 bzw. + 0,3 $\gamma\%$ von den bei Henning (5) angegebenen Werten ab.

Graphische Darstellung des Normalbereichs



Zahl/Bereich	6	18	31	37	31	18	4
Gesamtzahl	145						

IX. Ursachen der Veränderungen des PBI

Viele Faktoren greifen in den Jodstoffwechsel hemmend oder fördernd ein, so daß die Voraussetzungen zu einer verlässlichen PBI-Bestimmung oft nicht gegeben sind. Das Ausmaß der Beeinflussung ist aber unterschiedlich. Zur Beurteilung eines PBI-Wertes müssen alle jene Faktoren, die den Jodstoffwechsel beeinflussen können, berücksichtigt werden, oft können mehrere Ursachen am Zustandekommen eines abnormen PBI-Wertes beteiligt sein.

1. PBI-Veränderungen auf Grund primärer Schilddrüsenerkrankungen:

- a) Hyperthyreose, hervorgerufen durch ein toxisches Adenom oder eine Struma parenchymatosa (Basedow).

Beim toxischen Adenom findet man vielfach normale Werte, während sie beim Mb. Basedow fast durchwegs erhöht sind (3).

- b) Bei entzündlichen Erkrankungen werden unterschiedliche Befunde festgestellt: bei der akuten Riesenzellenthyreoiditis oft leichte Erhöhungen (wobei typischerweise der Radio-Jod-Test (RJT) auf Hypofunktion hinweist), bei der Struma lymphomatosa Werte an der unteren Normgrenze oder Erniedrigungen (3).

- c) Hypothyreosen verursachen in der Regel ein deutlich erniedrigtes PBI. Bei der Athyreose ist das PBI immer erniedrigt, bei Jodfehlverwertung sind die Befunde abhängig vom bestehenden Enzymdefekt: (10)

Jodinase	erniedrigt
Peroxydase	erniedrigt
Koppelungsenzym	normal bis erniedrigt
Protease	normal
Dehalogenase	normal

Die Stoffwechsellage ist aber in allen Fällen hypothyreot!

2. PBI-Veränderungen auf Grund sekundärer Einflüsse:

- a) Die hypophysäre Insuffizienz kann über eine verminderte TSH-Ausschüttung zu einer hypothyreoten Stoffwechsellage führen, die sich auch in einem verminderten PBI dokumentiert.

Iatrogene Einflüsse können direkt oder indirekt zu einer Veränderung des PBI durch Beeinflussung des Hormonhaushaltes

führen) jodhaltige Medikamente und antithyreoidale Substanzen).

b) Während einer Substitutionstherapie mit Schilddrüsenhormonen finden wir ein normales, bei Überdosierung ein hyperthyreotes, bei extrathyreoidaler Indikation anfangs ein erhöhtes PBI, das sich über eine Dämpfung der TSH-Ausschüttung normalisieren kann.

c) Auf die Gabe von anorganischem Jod folgt meist nur eine geringfügige Steigerung des PBI durch Bindung von anorganischem Jod an Proteine ohne hormonale Wirksamkeit beim Euthyreoten oder eine Normalisierung des PBI durch Anregung der Schilddrüse beim Hypothyreoten (mit hormonaler Wirksamkeit).

d) Unter den Medikamenten, die das PBI beeinflussen, spielen die antithyreoidalen Substanzen die wichtigste Rolle (6). Alle Stoffe, die direkt oder indirekt auf die TSH-Ausschüttung wirken, führen nach Absetzen der Therapie zu einem Reboundphänomen, dessen Intensität vom Typ des Präparates abhängig ist. Es kommt zu verschiedenen lang andauernden temporären Erhöhungen des PBI (6).

3. PBI-Veränderungen iatrogener Art:

Unter den iatrogenen Einflüssen steht bei allen organischen Jodverbindungen - mit Ausnahme der Schilddrüsenhormone - eine artefizielle Erhöhung des PBI ohne Beteiligung der Schilddrüsenfunktion im Vordergrund; die Wirkung von Medikamenten, wie Claviton, Pelsol, Jodopyrin, Agontan, Rulun, Enterovioform und Röntgen-Kontrastmitteln (Urographin, Biligraphin, Conray, Telepaque, Teridax) ist bekannt (6). Diese jodhaltigen Verbindungen gehen stabile, aber hormonal unwirksame Eiweißbindungen ein und fallen mit dem Protein aus (6, 10).

Das PBI steigt sehr rasch so hoch an, daß diese Werte mühelos von den durch andere Faktoren bedingten (anorganisches Jod, Hyperthyreose oder extrathyreoidale Organerkrankungen) zu unterscheiden sind.

4. Periphere Einflüsse auf den Jodstoffwechsel:

Die komplexen Beziehungen der Schilddrüse zu peripheren Geweben und zum Hormontransport bilden eine weitere Quelle extrathyreoidaler Einflüsse auf das PBI.

a) Die Leber nimmt im Kreislauf der Schilddrüsenhormone eine wichtige Stellung ein. Paarung des Thyroxins mit Glukuronsäure, sowie die Ausscheidung durch die Galle und Rückresorption im Darm bilden den enterohepatischen Kreislauf (10, 11). Diese physiologischen Vorgänge werden bei Erkrankungen der Leber gestört. Besonders im Anfangsstadium der Hepatitis epidemica tritt eine Erhöhung der PBI auf hyperthyreote Werte ein, noch vor Anstieg der Transaminasen (11). Die Erhöhung des PBI in diesen Fällen beruht auf einer Anreicherung der Hormone im Blut, hervorgerufen durch mangelhaftes Abbau- und Ausscheidungsvermögen der geschädigten Zellen (11). Dabei liegt vorübergehend eine klinisch asymptomatische, hyperthyreote Stoffwechsellage vor, die zu einer Hemmung des Jodumsatzes führt.

Beim Stauungsikterus ist das PBI ebenfalls erhöht durch Anreicherung der Glukuronsäuremetaboliten im Blut, wobei die Jodfixation normal ist (11).

b) Ein weiteres Speicherungs- und Regulationsorgan, das hormonbindende Globulin (TBG), bildet ebenfalls einen Angriffspunkt für mehrere störende Einflüsse. Diese beruhen auf einer Steigerung der Bindungskapazität und auf einer Verminderung des TBG. Die normale Bindungskapazität des TBG beträgt 19,1 % (11), sie ist auch dann nie vollkommen abgesättigt, wenn das PBI höhere Werte ergibt (11).

Eine Steigerung der Bindungskapazität erfolgt physiologischerweise in der Schwangerschaft. Östrogene haben ebenfalls eine kapazitätssteigernde Wirkung, wobei das PBI hyperthyreote Größenordnungen erreicht (11). In beiden Fällen aber besteht eine euthyreote Stoffwechsellage!

Zur Verminderung des TBG führt jeder stärkere Eiweißverlust: Proteinurie bei chronischer Nephritis und nephrotischem Syndrom (4, 11) und Plasmaverluste durch ausgedehnte Brandwunden. Bei längerem Andauern des Krankheitsbildes kann es zu einer Regulierung im Sinne einer Anpassungsstruma kommen (4).

Nicolai beschreibt sogar einen x-chromosomal dominant vererbten TBG-Mangel, wobei das PBI stark erniedrigt, die Stoffwechsellage aber wegen Vermehrung des freien Hormons euthyreot ist (4).

c) Die Niere ist für die regulierte Ausscheidung von Jodid durch Glomerulumfiltration und Rückresorption verantwortlich; hier erfolgt ein Teil der Dejodierungsvorgänge (10, 11). Niereninsuffizienz führt über eine Retention von anorganischem Jod indirekt sowie über den Ausfall der Dejodierung von orga-

nischen Jodverbindungen (T_3 , T_4 , Metaboliten) direkt zu einer Erhöhung des PBI. Auch die Beeinträchtigung der tubulären Rückresorption bei NNR-Erkrankungen kann zu Veränderungen des PBI führen (11).

d) Ein erniedrigtes PBI ergibt sich durch vermehrten peripheren Bedarf unter Wirkung von grundumsatzsteigernden Medikamenten wie p - Dinitrophenol und Salicylaten, wobei das PBI durch Verbrauch absinkt, eine Reaktion des HVL aber nicht erfolgt (6).

X. Eigene Beobachtungen

Unsere eigenen Erfahrungen beschränken sich auf die abnormen Werte, die im Rahmen von Reihenuntersuchungen gefunden wurden. Sie bestätigen die oben beschriebenen Erkenntnisse mittels der angegebenen Methode. Die erhobenen Befunde sind in der folgenden Tabelle zusammengefaßt (Tab. 1).

Tabelle 1

Nr.	Alter	Geschlecht	klin.Symptome	Diagnose	RJT	PBI	Medikamente	Bemerkungen
1	14 Jhr.	weibl.	Struma, Schwi- ren, Exophthal- mus, Glanzauge Tremor, Tachy- kardie, vermin- dert. Choleste- rin	Hyperthy- reose	+	12 μ %	Dethyrona	Beide Fälle waren zum Zeit- punkt der Bestimmung bereits anbehandelt, die Medikamente aber wegen des RJT recht- zeitig abgesetzt worden.
2	13 Jhr.	weibl.	Struma, Exoph- thalmus, Tremor, Stellwag und Moebius posit.	Hyperthy- reose	+	12,1 μ %	Dethyrona	
3	5 Jhr.	männl.	gering, Innenohrschwer- hörigkeit, trockene, raue Haut, erhöhtes Cholesterin	Hypothy- reose (Pendred- Syndrom)	keine Spei- che- rung!	1 μ %	Thyreoidin	Die fehlende Speicherung beim RJT wurde auf eine Absättigung der Schild- drüse mit Jod zurückge- führt, da die Anamnese eine außerhalb der Kli- nik vorgenommene Behand- lung mit Enterovioform wahrscheinlich machte. Aus dem Blut war das Me- dikament bereits elimi- niert.
4	2 Jhr.	weibl.	Geringe diffus. Hypothy- Struma, Taubheit reose körperl. u. geist. (Pendred- Retardierung, Syndrom) Makroglossie, vermind. Reflexe, erhöht. Cholest.	Hypothy- reose (Pendred- Syndrom)	+ Fehl- ver- wertung	0,3 μ %	Thyreoidin	Behandlung wurde 6 Wochen vor dem RJT abgesetzt. Dem Befund nach erscheint die- se Karenzzeit ausreichend.
5	5 Jhr.	weibl.	Schilddrüse nicht tastbar, (schwere körperl. u. geist. Form) Retardierung, trockene Haut, erhöht. Cholest.	Athyreose		1,9 μ %	Thyreo- Mack	Das Medikament wurde 2 Mo- nate vor der PBI-Bestim- mung abgesetzt.

Nr. Alter Geschlecht klin.Symptome Diagnose RJT PBI Medikamente Bemerkungen

6	8 Jhr.	weibl.	Spastizität: Debilität, ver- langsamt in Sprache u. Be- wegung, erhöht. Cholesterin	Athyreose + auch nach TSH- keine Stimmu- lierung	0 %		
7	3 Jhr.	weibl.	unauffällig erhöht. Cholest.	Athyreose +	1,3 %	Thyreoidin	Wie die vorhergehenden Fälle anbehandelt. Frü- her Myödem. Thyreoidin 8 Wo. vorher abgesetzt. Obwohl das Krankheits- bild des hypophysären Minderwuchses seit dem 11. Lebensjahr besteht, waren keinerlei Zeichen einer Hypothyreose (wie bei einem so geringen PBI zu erwarten) vorhanden. Dem Zeitpunkt der ersten Beschwerden nach handel- te es sich um eine Früh- erfassung. Die Transami- nasen waren stark erhöht u. überschritten sich ge- rade mit der PBI-Erhöhg. Erhöhte Transaminasen.
8	16 Jhr.	männl.	Harmonischer Minderwuchs, Kopfschmerzen	Panhypopi- tuitaris- mus	0,3 %		
9	8 Jhr.	männl.	Appetitlosig- keit, Erbrech., Magenschmerzen, Müdigkeit, Sklerenikterus	Hepatitis epidemic	20,7 %		
10	2 Mon.	weibl.	Ikterus Anämie Urämie	Stauungs- ikterus eintr. Pye- lonephritis	30 %		

Nr.	Alter	Geschlecht	Klin.Symptome	Diagnose	PBI	Medikamente	Bemerkungen
11	10 Jhr.	männl.	Vermindertes Somatogramm, Minderdurchblutung der Haut, bräunliches, Hautkolorit	Schrumpfnier, Urämie	17,3 %		Der erhöhte Rest-N weist auf die Niereninsuffizienz als Ursache der PBI-Erhöhung hin.
12	15 Jhr.	männl.	Abmagerung, blasses verfallenes Aussehen, Unterschenkelödeme, ascites, <u>Proteinurie</u> Zeichen eines akuten Abdomen	Lymphogranulomatose, Nephrose-Nephritis	0,1 %		Urin: Erythrozyten, Leukozyten Protein. Gesamteiweiß 3,9 mg. Einen Monat später wurde eine zweite PBI-Bestimmung durchgeführt, die 4,6% ergab (bei weiterbestehender Proteinurie). Eine Erklärung für diesen Anstieg fanden wir in einer Bluttransfusion von 400 ccm, die der Patient 6 Tage vor der 2.Bestimmung erhalten hatte.
13	2 1/2 Jhr.	weibl.		Verbrühungen II. u. III. Grades von 45% der Körperoberfläche	0 %		Bestimmung am 17. Tag nach dem Unfall bei 5,4% Eiweiß. Kontrollbestimmung am nächsten Tag. Ursache der PBI-Verminderung: Akuter Plasmaturz nach der Verbrühung u. lang anhaltender Plasmaabstrom durch die off. Wundflächen (bis 42. Tag).
14	8 1/2 Jhr.	weibl.		Niereninsuffizienz und renaler Diabetes bei Schrumpfniere	14 %	1 ccm Conray 70 (0,41gJ/ml)	befund durch zweimalige Bestimmung gesichert. Rest-N erhöht. Das Kontrastmittel wurde wenige Tage vorher gegeben. Dem PBI nach scheint der Einfluß dieses Kontrastmittels relativ gering zu sein, besonders nachdem aus einer Zusammenstellung verschiedener Kontrastmittel (Klein) ersichtlich ist, daß es solche gibt, die trotz hohen Jodgehaltes nur geringe Steigerungen des PBI bewirken.

Nr.	Alter	Geschlecht	klin.Symptome	Diagnose	PBI	Medikamente	Bemerkungen
15	10 1/2 Jhr.	männl.		Leukämie u.tox.Krise mit Nierenversagen	über 45 %	Mexaform	(Grenze der Meßbarkeit ca. 15 %; auch nach Reduktion der Ausgangsmenge auf 0,1 ml Serum bildete sich kein Farbkomplex). In Fall 14 u.15 liegen zwei Störfaktoren vor, wobei nicht zu sagen ist, wo die Niereninsuffizienz als Ursache der PBI-Erhöhung endet u. der Artefakt beginnt.
16	5 Mon.	männl.	Fieber, Blässe, Appetitlosigkeit, Kraftlosigkeit, dünne Stühle	Enteritis	13 %	Mexaform kurzzeitig 3 x 2 Tbl./d.	In beiden Fällen kommt Mexaform als alleinige Ursache einer artefiziellen PBI-Steigerung in Frage.
17	2 1/2 Jhr.	männl.	Fieber, Blässe, Durchfall	Enteritis	nicht meßbar	Mexaform (3 Tage lg. 3 x 4 Mikrotabletten)	
18	2 1/2 Jhr.	männl.	Dystrophie, Debilität, Genitalmißbildung, doppelseitige Bauchhöden, sonst multiple Mißbildungen	Pseudohermaphroditismus	11,8 %		Da für sonstige Einflüsse keine Anhaltspunkte gegeben waren, liegt einer Erhöhung der Bindungskapazität durch Östrogeneinfluß nahe, zumal sich der Wert in einem für Östrogeneinfluß typischen Bereich hält.
19.	1 1/2 Jhr.	weibl.	Dystrophie, Schleimhaut-u. Akrozyanose	Fallot'sche Tetralogie	0,3 %		Bei Fehlen sonstiger Einflußmöglichkeiten könnte auf Grund der euthyroiden Stoffwechsellsage an einen vererbten TBC-Mangel gedacht werden..

Zeichenerklärung: + bedeutet Bestätigung der Diagnose durch den RJT

In einem Teil der hier beschriebenen Fälle wurde die PBI-Bestimmung parallel mit einer Bestimmung in einem auswärtigen Laboratorium durchgeführt. Beim Vergleich der Ergebnisse stellten wir fest, daß bei den meisten Hypothyreosefällen unsere Werte am 1,5 - 3 % unter den auswärts bestimmten lagen. Dies läßt sich aus der tiefer liegenden unteren Grenze der Norm bei unserem Verfahren erklären.

XI. Diskussion

Außer den besprochenen Faktoren werden in der Literatur noch eine Reihe weiterer Stoffe erwähnt, über deren Bedeutung für den Jodhaushalt und das PBI die Meinungen auseinandergehen: Fluor, Serpasil, Brom, Parox, Chlorpromazine, Digitalis, PAS, Barbiturate, Sulfonamide, Sulfanylharnstoffe, Hydantoinderivate, BAL, Glukokortikoide und deren Derivate, Paraoxypropionphenon, Kobalt, Arsen, Quecksilberdiuretika.

Im Gegensatz zu anderen Autoren (7, 10) sind nach Klein diese Substanzen nur von geringer Bedeutung und nicht in der Lage, pathologische PBI-Werte zu verursachen; Rhodanid und Butazolidin können bei langjähriger Dauertherapie zu erniedrigten Werten führen (6).

Ein Hauptproblem bei der Beurteilung eines iatrogen beeinflussten Jodumsatzes ist die Verweildauer der verschiedenen Medikamente und die Frage, nach welcher Karenzzeit man sich auf die Objektivität des PBI verlassen kann. Die Dauer der Beeinflussung des Jodstoffwechsels ist vor allem von den verschiedenen chemischen Eigenschaften (Struktur, Stabilität der EW-Bindungen, Ausscheidungsrate) der Substanzen abhängig, weniger vom Jodgehalt und der Dosierung (6). Dazu kommt eine von der Stoffwechsellage abhängige Dejodierungsgeschwindigkeit.

Bei Thiourazilen und Merkaptoimidazolen kann man mit einer kurzen Verweildauer rechnen, zwei Monate Karenz erscheinen ausreichend, auch wenn man das Reboundphänomen berücksichtigt. Perchlorate haben als stoffwechselindifferente Substanzen lange Verweildauer, ein spät einsetzendes Reboundphänomen und zeigen in 67% der Fälle 12 Wochen nach Fortfall der Medikation noch iatrogene Stimulation des Jodumsatzes (6).

Von den Schilddrüsenpräparaten Thyreoidin und Thyreoidea sicca wissen wir aus eigener Erfahrung, daß eine zweimonatige Karenz ausreicht.

Kontrastmittel wirken sehr unterschiedlich:

Urographin und Conray führen trotz hoher Jodkonzentration nur zu einer geringen Erhöhung des PBI, die sich nach 1 - 2 Wochen schon wieder normalisiert (6).

Biligraphin verursacht eine PBI-Steigerung bis auf 20 γ %; es normalisiert sich nach 2 - 6 Monaten (6).

Telepaque p.o. erhöht bis auf 835 γ % und bleibt mindestens 6 Monate wirksam (6).

Teridax p.o. steigert das PBI auf 13 600 γ % in der ersten Woche und zeigt nach 6 Monaten noch pathologische Werte (6). Die Methode, mit der diese extrem hohen Werte bestimmt wurden, ist nicht angegeben.

Nach Kontrastmittelgaben sind erhöhte PBI-Werte bis zu 3 Jahren beobachtet worden (6).

Von klinisch-praktischer Bedeutung ist die Tatsache, daß sich der PBI-Test schneller normalisiert als der RJT (6), (s. Fall Nr. 3).

Die Genauigkeit des Verfahrens mit einem mittleren Fehler von 0,5 γ % in den Testreihen ist angemessen. Für den klinischen Gebrauch ist diese geringe Streubreite unter Berücksichtigung der erheblichen Störungsquellen vertretbar. Zwischen den Grenzen des Normalbereiches und den Werten mit klinisch faßbaren Symptomen liegt ein Bereich, der nach unseren Erfahrungen an der unteren Grenze nur wenige Zehntel, an der oberen aber bis zu 2 γ % beträgt. Der breite Normbereich und das darüber hinaus oft symptomfreie Intervall kennzeichnen die auf einer vielseitigen Regulationsfähigkeit beruhende große Toleranz des Organismus gegenüber Schwankungen im Jodstoffwechsel.

Mit dem Problem der Regulation ist die Frage nach der Stoffwechsellage eng verknüpft. Diese ist abhängig von der Menge des frei im Blut kreisenden Hormons und deshalb sowohl von der Produktion und Ausschüttung durch die Schilddrüse als auch von peripheren Regulationsmechanismen, welche für die

Mobilisation der proteingebundenen Hormone verantwortlich sind. Vor allem Leber und Niere sind an der Aufrechterhaltung des richtigen Verhältnisses zwischen PBI und freiem Hormon beteiligt. Temporäre Änderungen treten vor allem bei vorübergehenden Erkrankungen der Regulationsorgane, bei Überdosierung oder falscher Anwendung von Hormonen und antithyreoidalen Substanzen sowie beim Reboundphänomen auf. Darüber hinaus können periphere Faktoren zu Verminderungen des PBI (TBG-Mangel) oder zur Vermehrung (Stauungsikterus) führen, ohne daß sich die Stoffwechsellage ändert.

Besonders interessant ist in diesem Zusammenhang der erbliche TBG-Mangel. Da dieser nach Nicolai (4) x - chromosomal dominant vererbt wird, dürfte sein Vorkommen nicht selten sein. Damit könnte ein Großteil der bislang als idiopathisch bezeichneten PBI-Verminderungen erklärt werden.

Wenn der PBI-Test unter Ausschaltung aller hier beschriebenen Fehlerquellen durchgeführt werden kann, so hat er eine Treffsicherheit von 90% (3). Der RJT besitzt ebenfalls unter gleichen Bedingungen eine Treffsicherheit von 90% (10). Beide Verfahren zusammen ergeben eine Treffsicherheit von 95% (10).

Unter idealen Bedingungen ist der PBI-Test als sehr gute Methode zu bezeichnen. Er wird von verschiedenen Autoren (3, 7, 10) sogar als wichtigste und sicherste Methode für die Beurteilung der Schilddrüsenfunktion angesehen.

Bei verschiedenen störenden Einflüssen kommen wir aber ohne weitere Verfahren nicht aus. Besonders bei allen PBI-Steigerungen, die nicht auf einem vermehrten Hormongehalt beruhen, bietet die Bestimmung des Butanol-extrahierbaren-Jods (BEI) - erfaßt nur Thyroxin und Trijodthyronin - eine wertvolle Ergänzung. Den umfassendsten Einblick in die Vorgänge der Hormonsynthese bietet der RJT, doch ist dieser nicht nur anfälliger gegenüber Störfaktoren als das PBI, sondern auch umständlicher, kostspieliger und auf Kliniken beschränkt, die über eine Strahlenabteilung verfügen.

Neben seiner allgemeinen Bedeutung in der Schilddrüsendiagnostik hat sich der PBI-Test noch in der Differentialdiagnose gegen vegetative Störungen und nichtthyreogene Kardiopathien

bewährt (3) sowie in Notfallsituationen (thyreotoxischen Krisen und hypothyreotem Koma).

Die PBI-Bestimmung ist klinisch bedeutungsvoll zur Kontrolle der Therapie (Dosierung, Wirkung); dämpfende Einflüsse von Jodid auf den HVL ließen sich ebenfalls verfolgen.

Bei extrathyreoidalen Erkrankungen lassen sich drohende Entgleisungen der Stoffwechsellage aufdecken, bevor schädliche Rückwirkungen auf die Schilddrüsenfunktion erfolgen (nephrotisches Syndrom). Es wäre möglich, durch routinemäßige Bestimmung des PBI bei chronischen Eiweiß- und Hormonverlusten Beschwerden, die fälschlicherweise einer Anpassungsstruma zur Last gelegt werden können, ihrer tatsächlichen Ursache (Nierenerkrankung) zuzuordnen. Damit wird eine Fehldiagnose und eine in diesem Falle kontraindizierte antithyreoidale Therapie vermieden (Prophylaxe durch Hormonsubstitution).

XII. Schlußfolgerung

Zur Beurteilung der Brauchbarkeit eines Verfahrens für den Routinebetrieb müssen klinische, technische und kommerzielle Gesichtspunkte erwogen werden. Für den hier geprüften und verbesserten PBI-Test lassen sich diese auf Grund eigener Untersuchungen folgendermaßen zusammenfassen:

- Vorteile:
1. Große Sicherheit
 2. Geringe Belastung des Patienten
 3. Kleine Serummengen (0,3 ml)
 4. Schnelle Diagnosesicherung
 5. Möglichkeit der Rationalisierung durch Reihenbestimmung
 6. Vergleichsweise geringer Kostenaufwand.

- Nachteile:
1. Die Methode ist technisch schwierig und erfordert viel Erfahrung
 2. Der Test ist anfällig gegenüber extrathyreoidalen Störungen.

Nach Abwägung der Vor- und Nachteile erscheint uns das beschriebene Verfahren für den Routinebetrieb gut geeignet.

Jedes diagnostische Verfahren, das mit Isotopen arbeitet, stellt eine, wenn auch geringe, radioaktive Belastung für den Patienten dar. Deshalb halten wir es besonders für das Kindesalter erstre-

benswert, die Laboratoriumsdiagnostik der Schilddrüsenfunktion und der extrathyreoidalen Jodstoffwechselstörungen soweit als möglich auf chemischem Wege vorzunehmen (PBI, BEI, Cholesterin) und erst dann den RJT durchzuführen, wenn Fragen der Therapie den Einblick in spezielle Vorgänge der Hormonsynthese und der homöostatischen Regulation erforderlich machen.

XIII. Literatur

1. Feer, E.: Lehrbuch der Kinderheilkunde, S. 188, Fischer, Stuttgart 1966.
2. Haury, H.: Testanweisung für proteingebundenes Jod.
3. Hegglin, R.: Differentialdiagnose innerer Krankheiten, S. 235, Thieme, Stuttgart 1966.
4. Heinze, H.G. und Ebert, J.R.: Schilddrüsenstörungen durch Nierenerkrankungen, Med.Klin. 29 (1967), 1123.
5. Henning, N.: Klinische Laboratoriumsdiagnostik, S. 590, Urban & Schwarzenberg, München 1959.
6. Klein, E.: Iatrogene Störungen im Jodhaushalt, in Oberdisse K. und Klein E.: Fortschritte der Schilddrüsenforschung, Thieme, Stuttgart 1962.
7. Labhard A.: Klinik der inneren Sekretion, S. 152 u. 232, Springer, Berlin 1957.
8. Leffler H.H. und Mc Dougald, Ch.: Estimation of protein-bound iodine by means of improved technics.
9. Leonards J.R. und Davoren R.R.: A semi - automatic determination of protein-bound-iodine. Ann. New Acad. of Sciences 102 (1962) 83.
10. Schoen R. und Südhof H.: Biochemische Befunde in der Differentialdiagnose innerer Krankheiten, S. 483, Thieme, Stuttgart 1965.
11. Vannotti A. und Béraud-Lemarchand Th.: Störungen des Jodhaushaltes bei Krankheiten der Leber, Nieren und Ovarien, in Oberdisse K. und Klein E.: Fortschritte der Schilddrüsenforschung, Thieme, Stuttgart 1962.

Lebenslauf

Als Sohn des Flugzeugführers Heinz Wolter und seiner Ehefrau Erika, geb. Bolte, wurde ich, Klaus Joachim Georg Wolter, am 22. Mai 1940 in Berlin-Tempelhof geboren. Gegen Ende des Krieges zogen wir nach Rottenbuch in Oberbayern um, wo ich 1946 in die Volksschule eintrat. 1948 verlegten wir unseren Wohnsitz nach Pfaffenhofen über Roth bei Nürnberg. Im Jahre 1950 trat ich in die Oberrealschule Schwabach ein, an der ich 1960 das Abitur ablegte.

Von 1960 bis 1962 diente ich bei der Bundesmarine. Nach meiner Entlassung begann ich das Studium der Medizin an der Friedrich-Alexander-Universität zu Erlangen, wo ich ohne Unterbrechung studierte und am 24. Juli 1968 das Staatsexamen ablegte.

Offsetdruck-Fotodruck

J. Hogl, 852 Erlangen, Hauptstr. 109, (Nähe Martin-Luther-Platz) Tel. 22990
